

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年 1 月 23 日 (23.01.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/006409 A1

(51) 国際特許分類: C07C 43/23, 41/40, 41/26

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/07144

(22) 国際出願日: 2002 年 7 月 15 日 (15.07.2002)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2001-214474 2001 年 7 月 13 日 (13.07.2001) JP
特願2002-114872 2002 年 4 月 17 日 (17.04.2002) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 鐘淵化学工業株式会社 (KANEKA CORPORATION) [JP/JP];
〒530-8288 大阪府 大阪市 北区中之島 3 丁目 2 番 4 号
Osaka (JP).

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 植田 尚宏
(UEDA, Takahiro) [JP/JP]; 〒655-0872 兵庫県 神戸市

垂水区塩屋町 6 丁目 3 1-1 7-2 0 1 8 Hyogo (JP).
北村 志郎 (KITAMURA, Shiro) [JP/JP]; 〒673-0882 兵庫県 明石市 相生町 1 丁目 1 0-3 6-6 0 1 Hyogo (JP).
上田 恭義 (UEDA, Yasuyoshi) [JP/JP]; 〒671-1227 兵庫県 姫路市 網干区 和久 1 4 0-1 5 Hyogo (JP).

(74) 代理人: 安富 康男, 外 (YASUTOMI, Yasuo et al.); 〒532-0011 大阪府 大阪市 淀川区 西中島 5 丁目 4 番 2 0 号 中央ビル Osaka (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許

[続葉有]

(54) Title: METHOD OF PRODUCING REDUCED COENZYME Q₁₀ CRYSTALS WITH EXCELLENT HANDLING PROPERTIES

(54) 発明の名称: 操作性に優れた還元型補酵素 Q₁₀ 結晶の製造法

(57) Abstract: A method of producing reduced coenzyme Q₁₀ crystals, which is suitable for industrial production thereof. According to a method of producing reduced coenzyme Q₁₀ characterized in that reduced coenzyme Q₁₀ is crystallized in a solution of alcohols and/or ketones, reduced coenzyme Q₁₀ crystals having excellent slurry properties or crystalline properties can be obtained. Moreover, the isolation process involving the separation of the crystals or the whole process involving the isolation process can be shortened and simplified. Thus highly pure reduced coenzyme Q₁₀ can be obtained at a high yield.

(57) 要約:

本発明は、還元型補酵素 Q₁₀ 結晶を得るための工業的規模での生産に適した優れた製造法を提供する。

本発明の、アルコール類及び／又はケトン類の溶液中において還元型補酵素 Q₁₀ を晶出させることを特徴とする還元型補酵素 Q₁₀ 結晶の製造法によれば、スラリー性状や結晶性状の優れた還元型補酵素 Q₁₀ 結晶を得ることができる。また、結晶分離を含む単離プロセス、あるいは、その単離プロセスを含む全プロセスが最短化、且つ、簡便化でき、高純度の還元型補酵素 Q₁₀ を高収率で得ることができる。



WO 03/006409 A1



(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ
特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,
GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI 特
許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,
NE, SN, TD, TG).

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

添付公開書類:

— 国際調査報告書

明細書

操作性に優れた還元型補酵素 Q_{10} 結晶の製造法

技術分野

- 5 本発明は、還元型補酵素 Q_{10} 結晶の製造法に関する。還元型補酵素 Q_{10} は、酸化型補酵素 Q_{10} に比べて高い経口吸収性を示し、優れた食品、栄養機能食品、特定保健用食品、栄養補助剤、栄養剤、飲料、飼料、動物薬、化粧品、医薬品、治療薬、予防薬等として有用な化合物である。

10 背景技術

- 広く生物界に分布するベンゾキノン誘導体である酸化型補酵素 Q_{10} は、そのビタミン様の機能からビタミン Q とも呼ばれており、弱った細胞活性を健康な状態に戻す栄養源として身体を若返らせる成分である。一方、還元型補酵素 Q_{10} は、酸化型補酵素 Q_{10} の2電子還元体であり、酸化型補酵素 Q_{10} が橙色結晶であるのに対し、還元型補酵素 Q_{10} は白色結晶である。還元型補酵素 Q_{10} 及び酸化型補酵素 Q_{10} は、ミトコンドリア、リソゾーム、ゴルジ体、ミクロソーム、ペルオキシソーム、或いは細胞膜等に局在し、電子伝達系の構成成分としてATP産生賦活、生体内での抗酸化作用、膜安定化に関与している事が知られている生体の機能維持に必要不可欠な物質である。
- 15 還元型補酵素 Q_{10} は、例えば、合成、発酵、天然物からの抽出等の従来公知の方法により補酵素 Q_{10} を得た後、クロマトグラフィーにより流出液中の還元型補酵素 Q_{10} 区分を濃縮する方法等により得られることが知られている（特開平10-109933号公報）。この場合には、上記還元型補酵素 Q_{10} 中に含まれる酸化型補酵素 Q_{10} を、水素化ホウ素ナトリウム、亜ジチオン酸ナトリウム（次亜硫酸ナトリウム）等の還元剤を用いて還元した後、クロマトグラフィーによる濃縮を行っても良いこと、また、還元型補酵素 Q_{10} は、既存の高純度補酵素 Q_{10} （酸化型）に上記還元剤を作用させる方法によっても得られることも、当該公報中に記載されている。
- 20 還元型補酵素 Q_{10} は、例えば、合成、発酵、天然物からの抽出等の従来公知の方法により補酵素 Q_{10} を得た後、クロマトグラフィーにより流出液中の還元型補酵素 Q_{10} 区分を濃縮する方法等により得られることが知られている（特開平10-109933号公報）。この場合には、上記還元型補酵素 Q_{10} 中に含まれる酸化型補酵素 Q_{10} を、水素化ホウ素ナトリウム、亜ジチオン酸ナトリウム（次亜硫酸ナトリウム）等の還元剤を用いて還元した後、クロマトグラフィーによる濃縮を行っても良いこと、また、還元型補酵素 Q_{10} は、既存の高純度補酵素 Q_{10} （酸化型）に上記還元剤を作用させる方法によっても得られることも、当該公報中に記載されている。
- 25 還元型補酵素 Q_{10} は、例えば、合成、発酵、天然物からの抽出等の従来公知の方法により補酵素 Q_{10} を得た後、クロマトグラフィーにより流出液中の還元型補酵素 Q_{10} 区分を濃縮する方法等により得られることが知られている（特開平10-109933号公報）。この場合には、上記還元型補酵素 Q_{10} 中に含まれる酸化型補酵素 Q_{10} を、水素化ホウ素ナトリウム、亜ジチオン酸ナトリウム（次亜硫酸ナトリウム）等の還元剤を用いて還元した後、クロマトグラフィーによる濃縮を行っても良いこと、また、還元型補酵素 Q_{10} は、既存の高純度補酵素 Q_{10} （酸化型）に上記還元剤を作用させる方法によっても得られることも、当該公報中に記載されている。

 しかしながら、このようにして得られる還元型補酵素 Q_{10} は、好適に結晶化

させるのが必ずしも容易ではなく、酸化型補酵素 Q_{10} をはじめとする不純物を含有する低純度結晶、半固体状や油状物で得られやすい。また、なんとか結晶化できたとしても、スラリー性状等が悪いために、スラリーの流動性が悪くて攪拌しにくい、晶析缶から払い出しにくい、濾過性が悪くて結晶分離に長時間かかる

5 といった問題があった。さらに、還元型補酵素 Q_{10} は、各種有機溶媒に対する溶解度が高い傾向もあり、晶析収率が必ずしも高くないといった問題があった。

また、還元型補酵素 Q_{10} は、分子酸素によって酸化型補酵素 Q_{10} に酸化されやすい性質を有する。工業的規模での製造においては、完全な酸素の除去は極めて難しく、さらに、個々の操作に要する時間はラボスケールでの製造とは異なり、

10 かなり長時間になるため、残存する酸素が大きな悪影響を及ぼす。単離操作の長時間化は上記酸化のリスクを増大させ、難除去性の酸化型補酵素 Q_{10} の副生及び製品への混入といった収率、品質面の問題に直結する。

このような状況下、スラリー性状や結晶性状を改善し、還元型補酵素 Q_{10} を高収率で、濾過性良く取得する晶析法の確立、又、高純度の還元型補酵素 Q_{10} 結晶を得るための、結晶分離を含む単離プロセス、あるいは、その単離プロセスを含む全プロセスが最短化、且つ、簡便化された製造法の確立が強く望まれていた。

15

発明の要約

20 本発明は、上記に鑑み、還元型補酵素 Q_{10} 結晶を得るための工業的規模での生産に適した優れた製造法を提供することを目的とする。

本発明者らは、還元型補酵素 Q_{10} 結晶を良好に結晶成長させるべく、鋭意研究した結果、還元型補酵素 Q_{10} をアルコール類及び／又はケトン類の溶液から晶析することにより、スラリー性状や結晶性状の優れた還元型補酵素 Q_{10} 結晶

25 を高収率で得ることができることを見出し、本発明を完成させた。

即ち、本発明は、還元型補酵素 Q_{10} をアルコール類及び／又はケトン類の溶液中で晶析することを特徴とする還元型補酵素 Q_{10} 結晶の製造法に関する。

また、本発明は、酸化型補酵素 Q_{10} をアルコール類及び／又はケトン類の溶液中で還元型補酵素 Q_{10} に還元することにより得られた、還元型補酵素 Q_{10} を

含有するアルコール類及び／又はケトン類の溶液から、還元型補酵素 Q_{10} を晶析する上記製造法に関する。

本発明の方法によれば、結晶分離を含む単離プロセス、あるいは、その単離プロセスを含む全プロセスが最短化、且つ、簡便化でき、高純度の還元型補酵素 Q_{10} を高収率で得ることができる。

発明の詳細な開示

以下、本発明を詳細に説明する。

まず、還元型補酵素 Q_{10} 結晶の製造法、すなわち、還元型補酵素 Q_{10} の晶析法について説明する。

本発明の還元型補酵素 Q_{10} 結晶の製造法は、アルコール類及び／又はケトン類の溶液中で、還元型補酵素 Q_{10} を晶析するものである。好ましくは、アルコール類が用いられる。

晶析に用いる還元型補酵素 Q_{10} は、例えば、合成、発酵、天然物からの抽出等の従来公知の方法により得ることができる。好ましくは、還元型補酵素 Q_{10} 中に含まれる酸化型補酵素 Q_{10} を還元、或いは、酸化型補酵素 Q_{10} を還元することにより得られたものであり、より好ましくは、後述する本発明の還元反応を用いて得られたものである。

本発明の晶析法は、酸化型補酵素 Q_{10} を比較的多く含有するものについても適用できるが、後述する還元方法等により調製された高純度の還元型補酵素 Q_{10} に対して特に有効である。本発明においては、従来公知の方法により得られた、あるいは、後述する還元方法等により製造された、還元型補酵素 Q_{10} を含有する反応液や抽出液に含有される不純物の除去も兼ねて精製晶析するのが特に効果的である。このとき、不純物を母液に除去することが好ましい。これにより、共存する不純物、特に、通常除去するのが必ずしも容易ではない構造の類似した類縁化合物（具体的には、還元型補酵素 Q_9 、還元型補酵素 Q_8 、還元型補酵素 Q_7 等）を除去することができる。アルコール類及び／又はケトン類は、上記の構造の類似した化合物を除去するのに特に効果的な溶媒でもある。また、言うまでもなく、上記精製晶析は、還元型補酵素 Q_{10} 結晶を再精製するための再結晶法と

しても非常に有効である。

本発明における最も好ましい態様は、酸化型補酵素 Q_{10} をアルコール類及び／又はケトン類（好ましくはアルコール類）の溶液中で還元型補酵素 Q_{10} に還元した溶液から、還元型補酵素 Q_{10} を晶析（好ましくは精製晶析）する直接単
5 離法（ワンポット法）である。これにより、極めて簡便且つ効率的に、高収率で性状のよい高品質結晶を取得することができる。

本発明で用いるアルコール類としては、環状、非環状を問わず、又、飽和、不飽和を問わず、特に制限されないが、飽和のものが好ましく用いられる。例えば、1価アルコールとしては炭素数1～20のものが挙げられ、好ましくは炭素数1
10 ～12、より好ましくは炭素数1～6、さらに好ましくは炭素数1～5、特に好ましくは炭素数1～4、とりわけ好ましくは炭素数1～3のものである。最も好ましくは炭素数2～3の1価アルコールである。また、炭素数2～5、好ましくは炭素数2～3の2価アルコール、炭素数3の3価アルコール等も好適に用いられる。上記のうち、炭素数1～5の1価アルコールは、水と相溶性の高いアルコ
15 ールであり、水との混合溶媒として使用する場合に好適に用いられる。

1価アルコールとしては、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール、2-ブタノール、イソブチルアルコール、tert-ブチルアルコール、1-ペンタノール、2-ペンタノール、3-ペンタノール、2-メチル-1-ブタノール、イソペンチルアルコール、tert-
20 ーペンチルアルコール、3-メチル-2-ブタノール、ネオペンチルアルコール、1-ヘキサノール、2-メチル-1-ペンタノール、4-メチル-2-ペンタノール、2-エチル-1-ブタノール、1-ヘプタノール、2-ヘプタノール、3-ヘプタノール、1-オクタノール、2-オクタノール、2-エチル-1-ヘキサノール、1-ノナノール、1-デカノール、1-ウンデカノール、1-ドデ
25 カノール、アリルアルコール、プロパルギルアルコール、ベンジルアルコール、シクロヘキサノール、1-メチルシクロヘキサノール、2-メチルシクロヘキサノール、3-メチルシクロヘキサノール、4-メチルシクロヘキサノール等を挙げる
ことができる。

好ましくは、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、

1-ブタノール、2-ブタノール、イソブチルアルコール、tert-ブチルアルコール、1-ペンタノール、2-ペンタノール、3-ペンタノール、2-メチル-1-ブタノール、イソペンチルアルコール、tert-ペンチルアルコール、3-メチル-2-ブタノール、ネオペンチルアルコール、1-ヘキサノール、2-メチル-1-ペンタノール、4-メチル-2-ペンタノール、2-エチル-1-ブタノール、シクロヘキサノールである。より好ましくは、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール、2-ブタノール、イソブチルアルコール、tert-ブチルアルコール、1-ペンタノール、2-ペンタノール、3-ペンタノール、2-メチル-1-ブタノール、イソペンチルアルコール、tert-ペンチルアルコール、3-メチル-2-ブタノール、ネオペンチルアルコールである。さらに好ましくは、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール、2-ブタノール、イソブチルアルコール、2-メチル-1-ブタノール、イソペンチルアルコールである。特に好ましくは、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノールであり、とりわけ好ましくは、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノールであり、最も好ましくは、エタノールである。

2価アルコールとしては、例えば、1, 2-エタンジオール、1, 2-プロパンジオール、1, 3-プロパンジオール、1, 2-ブタンジオール、1, 3-ブタンジオール、1, 4-ブタンジオール、2, 3-ブタンジオール、1, 5-ペンタンジオール等を挙げることができる。好ましくは、1, 2-エタンジオール、1, 2-プロパンジオール、1, 3-プロパンジオールであり、最も好ましくは、1, 2-エタンジオールである。

3価アルコールとしては、例えばグリセリン等を好適に用いることができる。

ケトン類としては、特に制限されず、炭素数3~6のものが好適に用いられる。具体例としては、例えば、アセトン、メチルエチルケトン、メチルブチルケトン、メチルイソブチルケトン等を挙げることができる。好ましくは、アセトン、メチルエチルケトンであり、最も好ましくは、アセトンである。

晶析方法としては、特に制限されず、冷却晶析、濃縮晶析、溶媒置換晶析等のうちの少なくとも一つを用いて実施することができる。上記アルコール類及び／

又はケトン類中での還元型補酵素 Q_{10} の溶解度は、極めて好適な温度依存性を示し、これは還元型補酵素 Q_{10} の溶解量を好適に減じて結晶状態へ高収率で移行させる上で好適に寄与する。この特性を最大限に発揮するためには、冷却晶析、又は、冷却晶析に他の晶析方法を組み合わせて行うのが特に好ましい。

- 5 晶析濃度は、一つの重要な因子であり、晶析終了時の濃度、つまり、晶析終了時の晶析溶媒の重量に対する還元型補酵素 Q_{10} の重量として、好ましくは約15 w/w%以下、より好ましくは約13 w/w%以下、さらに好ましくは約10 w/w%以下である。上記濃度を維持することによって、工業的規模での操作性に耐えうる好適な晶析が可能となる。生産性の観点から、濃度の下限は、通常約
- 10 1 w/w%以上であり、好ましくは約2 w/w%以上である。

- 上記晶析は、強制流動下を実施するのが好ましい。過飽和の形成を抑制し、スムーズに核化・結晶成長を行うため、また、高品質化の観点から、単位容積当たりの攪拌所要動力として、通常約0.01 kW/m³以上、好ましくは約0.1 kW/m³以上、より好ましくは約0.3 kW/m³以上の流動が好ましい。上
- 15 記の強制流動は、通常、攪拌翼の回転により与えられるが、上記流動が得られれば必ずしも攪拌翼を用いる必要はなく、例えば、液の循環による方法等を利用しても良い。

晶析に際しては、過飽和の形成を抑制し、スムーズに核化・結晶成長を行うために、種晶を添加することも好ましく行われる。

- 20 還元型補酵素 Q_{10} の晶析温度（晶析時の冷却温度）は、特に制限されないが、収率等の観点より、好ましくは25℃以下、より好ましくは20℃以下、さらに好ましくは15℃以下、特に好ましくは10℃以下である。下限は、系の固化温度である。よって、当該冷却温度を、好ましくは0～25℃程度とすることにより、晶析を好適に実施できる。

- 25 晶析時には、単位時間当たりの結晶の晶出量を制御して、過飽和の形成を制御するのが好ましい。好ましい単位時間当たりの晶出量は、例えば、単位時間当たり全晶出量の約50%量が晶出する速度以下（即ち、最大で50%量/時間）であり、好ましくは、単位時間当たり全晶出量の約25%量が晶出する速度以下（即ち、最大で25%量/時間）である。冷却晶析の場合、冷却速度として、通常、

約 40℃/時間以下、好ましくは約 20℃/時間以下である。

本発明の晶析法においては、通常、晶析によって得られるスラリー性状や結晶性状の観点から、上記溶媒を用いるのが好ましいが、上記アルコール類及び／又はケトン類の溶液に他の溶媒を共存させる又は添加することもできる。

- 5 これらの他の溶媒としては、特に制限されないが、例えば、炭化水素類、脂肪酸エステル類、エーテル類、脂肪酸類、窒素化合物類（ニトリル類、アミド類を含む）、硫黄化合物類、水等を挙げることができる。

炭化水素類、脂肪酸エステル類、エーテル類、及び、ニトリル類としては、還元反応の溶媒として後述する溶媒を好適に使用することができる。

- 10 脂肪酸類としては、例えば、ギ酸、酢酸、プロピオン酸等を挙げることができる。好ましくはギ酸、酢酸であり、最も好ましくは酢酸である。

ニトリル類を除く窒素化合物類としては、例えば、ニトロメタン、トリエチルアミン、ピリジン、ホルムアミド、N-メチルホルムアミド、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドン等を挙げ
15 ることができる。

硫黄化合物類としては、例えば、ジメチルスルホキシド、スルホラン等を挙げることができる。

- これらの他の溶媒は、還元型補酵素 Q₁₀ の溶解度、晶析濃度、収率、スラリー性状、結晶性状等の晶析条件を左右する条件を改善するために、これらの他の
20 溶媒の特性に従って、好ましい割合で上記アルコール類及び／又はケトン類の溶液と共に用いると効果的である。

- 上記他の溶媒のうち、還元型補酵素 Q₁₀ の溶解性を好適に減じて高い収率を得る、スラリー性状を改善する、そして特に注目すべきことであるが、固液分離性（濾過性）を大きく改善するという観点から、特に水を好ましく用いることが
25 できる。

これらの他の溶媒と上記アルコール類及び／又はケトン類との割合は、溶媒の種類によっても異なるので一律に規定できず、実質的に上記アルコール類及び／又はケトン類を主成分とする溶媒であれば特に制限されない。好ましくは、溶媒中の上記アルコール類及び／又はケトン類の割合が、アルコール類とケトン類の

合計として約 80 w/w% 以上であり、より好ましくは約 90 w/w% 以上であり、さらに好ましくは約 93 w/w% 以上である。

特に、先述の固液分離性の改善という観点から、補助的溶媒として水を用いる場合、溶媒中の上記アルコール類及び／又はケトン類の割合は、下限は、約 90 w/w% 以上、好ましくは約 91 w/w% 以上、より好ましくは約 92 w/w% 以上、さらに好ましくは約 93 w/w% 以上であり、上限は、約 99.5 w/w% 以下、好ましくは約 99 w/w% 以下、より好ましくは約 98 w/w% 以下、さらに好ましくは約 97 w/w% 以下である。通常、約 90～約 99.5 w/w% で好適に実施でき、約 93～約 97 w/w% で最も好適に実施できる。

- 10 このようにして得られる還元型補酵素 Q_{10} の結晶は、好ましくは、例えば、遠心分離、加圧濾過、減圧濾過等による固液分離、さらに、必要に応じて、上記アルコール類又はケトン類をはじめとする本発明に記載される溶媒を用いてケーキ洗浄を行って湿体として取得し、さらに、内部を不活性ガスに置換した減圧乾燥器（真空乾燥器）に湿体を仕込み、減圧下、乾燥し、乾体として取得することが
- 15 ができるし、乾体として取得するのが好ましい。

本発明の製造法は、脱酸素雰囲気下で実施することが、酸化防護の上で効果的である。脱酸素雰囲気は、不活性ガスによる置換、減圧、沸騰やこれらを組み合わせることにより達成できる。少なくとも、不活性ガスによる置換、即ち、不活性ガス雰囲気をを用いるのが好適である。上記不活性ガスとしては、例えば、窒素

20 ガス、ヘリウムガス、アルゴンガス、水素ガス、炭酸ガス等を挙げることができ、好ましくは窒素ガスである。

次に、本発明に使用するに好適な還元型補酵素 Q_{10} の合成法、すなわち、酸化型補酵素 Q_{10} から還元型補酵素 Q_{10} に還元する反応について述べる。

- 先述のように、上記還元反応は、上記の晶析法で述べたアルコール類及び／又は
- 25 ケトン類の溶液で行い、直接単離法（ワンポット法）に付すのが好ましい。これにより、操作を簡便化且つ最短化して、分子酸素による酸化を最小化することができる。この場合の特に好適な還元剤は、後述するアスコルビン酸類である。

また、操作が長時間に及んでも還元型補酵素 Q_{10} が分子酸素により酸化されるのを防護するために、上記還元反応及び／又は抽出・水洗操作を、酸化防護効

果の高い溶媒を用いて実施するのも好ましい。

このような酸化防護効果の高い溶媒としては、炭化水素類、脂肪酸エステル類、エーテル類、及び、ニトリル類から選ばれる少なくとも1種を用いるのが好ましく、最も好ましくは炭化水素類である。

- 5 炭化水素類としては、特に制限されないが、例えば、脂肪族炭化水素、芳香族炭化水素、ハロゲン化炭化水素等を挙げることができる。脂肪族炭化水素、芳香族炭化水素が好ましく、脂肪族炭化水素がより好ましい。

- 脂肪族炭化水素としては、環状、非環状を問わず、又、飽和、不飽和を問わず、特に制限されないが、通常、炭素数3～20、好ましくは炭素数5～12のものが用いられる。

- 具体例としては、例えば、プロパン、ブタン、イソブタン、ペンタン、2-メチルブタン、シクロペンタン、2-ペンテン、ヘキサン、2-メチルペンタン、2, 2-ジメチルブタン、2, 3-ジメチルブタン、メチルシクロペンタン、シクロヘキサン、1-ヘキセン、シクロヘキセン、ヘプタン、2-メチルヘキサン、3-メチルヘキサン、2, 3-ジメチルペンタン、2, 4-ジメチルペンタン、メチルシクロヘキサン、1-ヘプテン、オクタン、2, 2, 3-トリメチルペンタン、イソオクタン、エチルシクロヘキサン、1-オクテン、ノナン、2, 2, 5-トリメチルヘキサン、1-ノネン、デカン、1-デセン、p-メンタン、ウンデカン、ドデカン等を挙げることができる。

- 20 中でも、炭素数5～8の飽和脂肪族炭化水素がより好ましく、炭素数5のペンタン、2-メチルブタン、シクロペンタン（ペンタン類と称す）；炭素数6のヘキサン、2-メチルペンタン、2, 2-ジメチルブタン、2, 3-ジメチルブタン、メチルシクロペンタン、シクロヘキサン（ヘキサン類と称す）；炭素数7のヘプタン、2-メチルヘキサン、3-メチルヘキサン、2, 3-ジメチルペンタン、2, 4-ジメチルペンタン）、メチルシクロヘキサン（ヘプタン類と称す）；炭素数8のオクタン、2, 2, 3-トリメチルペンタン、イソオクタン、エチルシクロヘキサン（オクタン類と称す）；及びこれらの混合物が好ましく用いられる。とりわけ、上記ヘプタン類は酸化からの防護効果が特に高い傾向がありさらに好ましく、ヘプタンが最も好ましい。

芳香族炭化水素としては、特に制限されないが、通常、炭素数6～20、好ましくは炭素数6～12、より好ましくは炭素数7～10のものが用いられる。具体例としては、例えば、ベンゼン、トルエン、キシレン、*o*-キシレン、*m*-キシレン、*p*-キシレン、エチルベンゼン、クメン、メシチレン、テトラリン、ブチルベンゼン、*p*-シメン、シクロヘキシルベンゼン、ジエチルベンゼン、ペンチルベンゼン、ジペンチルベンゼン、ドデシルベンゼン、スチレン等を挙げることができる。好ましくは、トルエン、キシレン、*o*-キシレン、*m*-キシレン、*p*-キシレン、エチルベンゼン、クメン、メシチレン、テトラリン、ブチルベンゼン、*p*-シメン、シクロヘキシルベンゼン、ジエチルベンゼン、ペンチルベンゼンである。より好ましくは、トルエン、キシレン、*o*-キシレン、*m*-キシレン、*p*-キシレン、クメン、テトラリンであり、最も好ましくは、クメンである。

ハロゲン化炭化水素としては、環状、非環状を問わず、又、飽和、不飽和を問わず、特に制限されないが、非環状のものが好ましく用いられる。塩素化炭化水素、フッ素化炭化水素がより好ましく、塩素化炭化水素がさらに好ましい。また、炭素数1～6、好ましくは炭素数1～4、より好ましくは炭素数1～2のものが用いられる。

具体例としては、例えば、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、1, 1-ジクロロエタン、1, 2-ジクロロエタン、1, 1, 1-トリクロロエタン、1, 1, 2-トリクロロエタン、1, 1, 1, 2-テトラクロロエタン、1, 1, 2, 2-テトラクロロエタン、ペンタクロロエタン、ヘキサクロロエタン、1, 1-ジクロロエチレン、1, 2-ジクロロエチレン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1, 2-ジクロロプロパン、1, 2, 3-トリクロロプロパン、クロロベンゼン、1, 1, 1, 2-テトラフルオロエタン等を挙げることができる。

好ましくは、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、1, 1-ジクロロエタン、1, 2-ジクロロエタン、1, 1, 1-トリクロロエタン、1, 1, 2-トリクロロエタン、1, 1-ジクロロエチレン、1, 2-ジクロロエチレン、トリクロロエチレン、クロロベンゼン、1, 1, 1, 2-テトラフルオロエタンである。より好ましくは、ジクロロメタン、クロロホルム、1, 2-ジクロロエ

チレン、トリクロロエチレン、クロロベンゼン、1, 1, 1, 2-テトラフルオロエタンである。

脂肪酸エステル類としては、特に制限されないが、例えば、プロピオン酸エステル、酢酸エステル、ギ酸エステル等を挙げることができる。酢酸エステル、ギ酸エステルが好ましく、酢酸エステルがより好ましい。エステル基としては、特に制限されないが、炭素数 1～8 のアルキルエステル、炭素数 1～8 のアラルキルエステル、好ましくは炭素数 1～6 のアルキルエステル、より好ましくは炭素数 1～4 のアルキルエステルが用いられる。

10 プロピオン酸エステルとしては、例えば、プロピオン酸メチル、プロピオン酸エチル、プロピオン酸ブチル、プロピオン酸イソペンチル等を挙げることができる。好ましくはプロピオン酸エチルである。

酢酸エステルとしては、例えば、酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸イソプロピル、酢酸ブチル、酢酸イソブチル、酢酸 *sec*-ブチル、酢酸ペンチル、酢酸イソペンチル、酢酸 *sec*-ヘキシル、酢酸シクロヘキシル、酢酸ベンジル等を挙げることができる。好ましくは、酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸イソプロピル、酢酸ブチル、酢酸イソブチル、酢酸 *sec*-ブチル、酢酸ペンチル、酢酸イソペンチル、酢酸 *sec*-ヘキシル、酢酸シクロヘキシルである。より好ましくは、酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸イソプロピル、酢酸ブチル、酢酸イソブチルであり、最も好ましくは、酢酸エチルである。

ギ酸エステルとしては、例えば、ギ酸メチル、ギ酸エチル、ギ酸プロピル、ギ酸イソプロピル、ギ酸ブチル、ギ酸イソブチル、ギ酸sec-ブチル、ギ酸ペンチル等を挙げることができる。好ましくは、ギ酸メチル、ギ酸エチル、ギ酸プロピル、ギ酸ブチル、ギ酸イソブチル、ギ酸ペンチルであり、最も好ましくは、ギ酸エチルである。

エーテル類としては、環状、非環状を問わず、又、飽和、不飽和を問わず、特に制限されないが、飽和のものが好ましく用いられる。通常、炭素数3～20、好ましくは炭素数4～12、より好ましくは炭素数4～8のものが用いられる。

具体例としては、例えば、ジエチルエーテル、メチル *tert*-ブチルエーテ

ル、ジプロピルエーテル、ジイソプロピルエーテル、ジブチルエーテル、ジヘキシルエーテル、エチルビニルエーテル、ブチルビニルエーテル、アニソール、フェネトール、ブチルフェニルエーテル、メトキシトルエン、ジオキサン、フラン、2-メチルフラン、テトラヒドロフラン、テトラヒドロピラン、エチレングリコールジメチルエーテル、エチレングリコールジエチルエーテル、エチレングリコールジブチルエーテル、エチレングリコールモノメチルエーテル、エチレングリコールモノエチルエーテル、エチレングリコールモノブチルエーテル等を挙げる
5 ことができる。

好ましくは、ジエチルエーテル、メチルtert-ブチルエーテル、ジプロピルエーテル、ジイソプロピルエーテル、ジブチルエーテル、ジヘキシルエーテル、アニソール、フェネトール、ブチルフェニルエーテル、メトキシトルエン、ジオキサン、2-メチルフラン、テトラヒドロフラン、テトラヒドロピラン、エチレングリコールジメチルエーテル、エチレングリコールジエチルエーテル、エチレングリコールジブチルエーテル、エチレングリコールモノメチルエーテル、エチレングリコールモノエチルエーテルである。より好ましくは、ジエチルエーテル、メチルtert-ブチルエーテル、アニソール、ジオキサン、テトラヒドロフラン、エチレングリコールモノメチルエーテル、エチレングリコールモノエチルエーテルである。さらに好ましくは、ジエチルエーテル、メチルtert-ブチルエーテル、アニソール等であり、最も好ましくは、メチルtert-ブチルエーテルである。
10
15
20

ニトリル類としては、環状、非環状を問わず、又、飽和、不飽和を問わず、特に制限されないが、飽和のものが好ましく用いられる。通常、炭素数2~20、好ましくは炭素数2~12、より好ましくは炭素数2~8のものが用いられる。

具体例としては、例えば、アセトニトリル、プロピオニトリル、マロノニトリル、ブチロニトリル、イソブチロニトリル、スクシノニトリル、バレロニトリル、グルタロニトリル、ヘキサニトリル、ヘプチルシアニド、オクチルシアニド、ウンデカンニトリル、ドデカンニトリル、トリデカンニトリル、ペンタデカンニトリル、ステアロニトリル、クロロアセトニトリル、プロモアセトニトリル、クロロプロピオニトリル、プロモプロピオニトリル、メトキシアセトニトリル、シ
25

- アノ酢酸メチル、シアノ酢酸エチル、トルニトリル、ベンゾニトリル、クロロベンゾニトリル、プロモベンゾニトリル、シアノ安息香酸、ニトロベンゾニトリル、アニソニトリル、フタロニトリル、ブロモトルニトリル、メチルシアノベンゾエート、メトキシベンゾニトリル、アセチルベンゾニトリル、ナフトニトリル、ビ
- 5 フェニルカルボニトリル、フェニルプロピオニトリル、フェニルブチロニトリル、メチルフェニルアセトニトリル、ジフェニルアセトニトリル、ナフチルアセトニトリル、ニトロフェニルアセトニトリル、クロロベンジルシアニド、シクロプロパンカルボニトリル、シクロヘキサンカルボニトリル、シクロヘプタンカルボニトリル、フェニルシクロヘキサンカルボニトリル、トリルシクロヘキサンカルボ
- 10 ニトリル等を挙げることができる。

- 好ましくは、アセトニトリル、プロピオニトリル、ブチロニトリル、イソブチロニトリル、スクシノニトリル、バレロニトリル、クロロプロピオニトリル、シアノ酢酸メチル、シアノ酢酸エチル、トルニトリル、ベンゾニトリルである。より好ましくは、アセトニトリル、プロピオニトリル、ブチロニトリル、イソブチ
- 15 ロニトリルであり、最も好ましくは、アセトニトリルである。

- 上記溶媒の中でも、例えば、溶解度を高めるための適度な加温ができ、且つ、湿体からの溶剤の乾燥除去や晶析濾液等からの溶剤回収の行いやすい沸点（1気圧下、約30～150℃）、室温での取り扱い時でも室温以下に冷却した時でも固化しにくい融点（約20℃以下、好ましくは約10℃以下、より好ましくは約
- 20 0℃以下）を持ち、粘性が低い（20℃において約10cP以下等）等の、沸点、粘性等の性質を考慮して選定するのが好ましい。工業的な作業上の観点から、常温で揮発し難いものが好ましく、例えば、沸点が約80℃以上のものが好ましく、約90℃以上のものがより好ましい。

- 還元型補酵素 Q_{10} は高濃度の溶液ほど酸化されにくい傾向にある。上記溶媒
- 25 に対して還元型補酵素 Q_{10} は高い溶解性を示し、上記溶媒はこの点でも酸化防護に好適である。還元型補酵素 Q_{10} の酸化を防護するために好ましい濃度は、溶媒の種類等により一律に規定できないが、上記溶媒に対する還元型補酵素 Q_{10} の濃度として、通常1w/w%以上、好ましくは2w/w%以上である。上限は、特に制限されないが、実際的な操作性という観点から、400w/w%以下、

好ましくは200w/w%以下、より好ましくは100w/w%以下、さらに好ましくは50w/w%以下である。

このように、上記溶媒の使用によって、望ましくない酸素の副反応は、還元工程を通して最小化される。

- 5 還元反応は、水素化金属化合物、鉄（金属又は塩としての鉄）、亜鉛（金属としての亜鉛）、次亜硫酸類、アスコルビン酸類等を還元剤として用いて実施することができる。

- また、水素化金属化合物、鉄（金属又は塩としての鉄）、亜鉛（金属としての亜鉛）、次亜硫酸類を用いる還元は、上記の酸化防護効果の高い溶媒中で好ましく実施される。さらに、アスコルビン酸類を用いる還元は、上記の酸化防護効果の高い溶媒の他、アルコール類及び／又はケトン類等の種々の溶媒を用いて実施できるが、好ましくは、アルコール類（特に好ましくは、水と相溶性の高いアルコール）、水と相溶性の高いエーテル類、水と相溶性の高いニトリル類及び水と相溶性の高いケトン類を用いて実施できる。
- 10

- 15 水素化金属化合物としては、特に制限されないが、例えば、水素化ホウ素ナトリウム、水素化リチウムアルミニウム等を挙げることができる。上記水素化金属化合物の使用量は、水素化金属化合物の種類により異なり、一律に規定できないが、通常、理論水素当量の1～3倍量で好適に実施できる。

- 鉄又は亜鉛を用いる還元は、通常、酸を使用して実施される。酸としては、特に制限されないが、例えば、酢酸等の脂肪酸、メタンスルホン酸等のスルホン酸、塩酸や硫酸等の無機酸等を挙げることができる。好ましくは無機酸であり、より好ましくは硫酸である。
- 20

- 鉄の使用量は、特に制限されないが、酸化型補酵素 Q_{10} の仕込み重量に対して、例えば、約1/5重量以上で好適に実施できる。上限は特に制限されないが、経済性の観点等から、約2倍重量以下である。なお、鉄は、金属鉄のみならず、硫酸鉄（II）等の塩の形態でも使用できる。
- 25

また、亜鉛の使用量は、特に制限されないが、酸化型補酵素 Q_{10} の仕込み重量に対して、例えば、約1/10重量以上で好適に実施できる。上限は特に制限されないが、経済性の観点等から、約2倍重量以下である。

次亜硫酸類としては特に制限されず、通常、次亜硫酸の塩である。次亜硫酸の塩としては特に制限されず、アルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩、アンモニウム塩等が好ましく、リチウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩がより好ましく、ナトリウム塩が最も好ましい。上記次亜硫酸類の使用量は、特に制限されないが、通常、酸化型補酵素 Q_{10} の仕込み重量に対して、約1/5重量以上、好ましくは約2/5重量以上、より好ましくは約3/5重量以上である。多くても特に支障はないが、経済的な観点から、通常、約2倍重量以下、好ましくは同重量以下で用いられる。よって、約2/5重量～約同重量の範囲でより好適に実施できる。

10 アスコルビン酸類としては、特に制限されず、例えば、アスコルビン酸のみならず、r h a m n o-アスコルビン酸、a r a b o-アスコルビン酸、g l u c o-アスコルビン酸、f u c o-アスコルビン酸、g l u c o h e p t o-アスコルビン酸、x y l o-アスコルビン酸、g a l a c t o-アスコルビン酸、g u l o-アスコルビン酸、a l l o-アスコルビン酸、e r y t h r o-アスコルビン酸、6-デスオキシアスコルビン酸等のアスコルビン酸に類するものが挙げられ、また、それらのエステル体や塩であってもかまわない。さらに、これらはL体、D体、或いは、ラセミ体であっても良い。より具体的には、例えば、L-アスコルビン酸、L-アスコルビン酸パルミテート、L-アスコルビン酸ステアレート、D-a r a b o-アスコルビン酸等を挙げることができる。還元型補
15 酵素 Q_{10} の製造において、上記アスコルビン酸類をいずれも好適に使用できるが、生成した還元型補酵素 Q_{10} との分離のしやすさ等を考慮すると、上記のアスコルビン酸類のうち、特に水溶性のものが好適に用いられ、最も好ましくは、入手容易性、価格等の観点から、L-アスコルビン酸、D-a r a b o-アスコルビン酸等のフリー体である。

25 上記のアスコルビン酸類の使用量は、特に制限されず、酸化型補酵素 Q_{10} を還元型補酵素 Q_{10} に変換しうる有効量であればよく、酸化型補酵素 Q_{10} に対して、通常1倍モル量以上、好ましくは1.2倍モル量以上である。上限は特に制限されないが、経済性を考慮して、通常10倍モル量以下、好ましくは5倍モル量以下、より好ましくは3倍モル量以下である。

上記還元剤のうち、還元能力、収率、品質といった観点から、亜鉛、次亜硫酸類、アスコルビン酸類が好ましく、次亜硫酸類（具体的には、次亜硫酸塩）、アスコルビン酸類がより好ましい。

- 還元反応においては、水及び／又はアルコール類を好適に併用することができる。5
5 水は、特に還元剤として鉄、亜鉛、次亜硫酸類を用いる場合に好適である。還元剤として水素化金属化合物を用いる場合には、アルコール類を併用することができる。水、アルコール類の併用は、これら水、アルコール類の特性が発揮され、反応速度の向上や反応収率の向上等に寄与する。

以下に好ましい還元方法についてより詳細に述べる。

- 10 上記次亜硫酸類を用いる還元は、水を併用して、上記の炭化水素類、脂肪酸エステル類、エーテル類、及び、ニトリル類から選ばれる少なくとも1種の有機溶媒（好ましくは炭化水素類、より好ましくは脂肪族炭化水素、さらに好ましくはヘプタン類、特に好ましくはヘプタン）と水との混合溶媒系で実施するのが好ましい。その際、反応時のpHは、収率等の観点から、通常pH7以下、好ましくはpH3～7、より好ましくはpH3～6で実施される。上記pHは、酸（例えば、塩酸や硫酸等の無機酸）や塩基（例えば、水酸化ナトリウム等のアルカリ金属水酸化物）を用いて、調整することができる。15

- 上記次亜硫酸類を用いる還元において、水の使用量は、特に制限されず、還元剤である次亜硫酸類を適度に溶解する量であれば良く、例えば、上記次亜硫酸類20
20 の水に対する重量が、通常、30w/w%以下、好ましくは20w/w%以下になるように調整するのが良い。又、生産性等の観点から、通常、1w/w%以上、好ましくは5w/w%以上、より好ましくは10w/w%以上であるのが良い。

- 上記アスコルビン酸類を用いる還元は、上記の炭化水素類、脂肪酸エステル類、エーテル類、及び、ニトリル類のうち、特に水と相溶性の高い溶媒、なかでも水25
25 と相溶性の高いエーテル類及びニトリル類、具体的には、テトラヒドロフラン、ジオキサン、アセトニトリル等を用いて好適に実施することができるが、前記の本発明の晶析法で用いられるアルコール類及び／又はケトン類（好ましくは、水と相溶性の高いアルコール類及び／又はケトン類（具体的には、アルコール類としては、炭素数1～5、好ましくは炭素数1～4、より好ましくは炭素数1～3

の1価又は2価（好ましくは1価）のアルコール、ケトン類としては、アセトン、メチルエチルケトン等））を使用するのが特に好ましい。

又、アスコルビン酸類を用いる還元においては、反応促進の観点から（例えば、反応温度の低下、反応時間の短縮等）、塩基性物質や亜硫酸水素塩等の反応促進

5 効果を有する添加剤を共存させて実施することができる。

上記塩基性物質としては、特に制限されず、例えば、無機化合物、有機化合物を問わず使用しうる。上記無機化合物としては、特に制限されないが、例えば、金属（好ましくは、アルカリ金属、アルカリ土類金属等）の水酸化物、炭酸塩、炭酸水素塩やアンモニア等を挙げることができる。その代表的なものとして、例

10 えば、水酸化ナトリウム等のアルカリ金属水酸化物、炭酸ナトリウム等のアルカリ金属炭酸塩、炭酸水素ナトリウム等のアルカリ金属炭酸水素塩、炭酸マグネシウム等のアルカリ土類金属炭酸塩等を挙げることができる。上記有機化合物としては、特に制限されないが、例えば、トリエチルアミン等のアミン等を挙げることができる。上記の塩基性物質のうち、金属（好ましくは、アルカリ金属、アルカリ土類金属等）の炭酸塩、炭酸水素塩、アンモニア等の無機化合物；トリエチルアミン等のアミン等の有機化合物といった弱い塩基性物質（弱塩基又は弱アルカリ）を好ましく使用できる。より好ましくは上記の弱塩基性の無機化合物である。

また、上記亜硫酸水素塩としては、例えば、亜硫酸水素ナトリウム等のアルカリ金属亜硫酸水素塩等を好適なものとして挙げることができる。

上記添加剤の量は、期待する程度の反応促進効果を発揮しうる量（有効量）であればよく、特に制限されないが、経済性も考慮して、アスコルビン酸類に対して、通常20倍モル量以下、好ましくは10倍モル量以下、より好ましくは5倍モル量以下、さらに好ましくは2倍モル量以下である。下限は、特に制限されないが、通常0.01倍モル量以上、好ましくは0.05倍モル量以上、より好ましくは0.1倍モル量以上、さらに好ましくは0.2倍モル量以上である。

本発明において記載される還元反応は、強制流動下を実施するのが好ましい。単位容積当たりの攪拌所要動力として、通常約0.01kW/m³以上、好ましくは約0.1kW/m³以上、より好ましくは約0.3kW/m³以上の流動が

好ましい。上記の強制流動は、通常、攪拌翼の回転により与えられるが、上記流動が得られれば必ずしも攪拌翼を用いる必要はなく、例えば、液の循環による方法等を利用しても良い。

- 還元温度は、還元剤の種類や量によって異なり、一律に規定できない。例えば、
- 5 次亜硫酸類を用いる還元においては、通常100℃以下、好ましくは80℃以下、より好ましくは60℃以下で実施される。下限は、系の固化温度である。よって、還元は、通常、0～100℃程度、好ましくは0～80℃程度、より好ましくは0～60℃程度で好適に実施できる。また、アスコルビン酸類を用いる還元においては、通常30℃以上、好ましくは40℃以上、より好ましくは50℃以上で
- 10 実施される。上限は系の沸点である。よって、還元は、通常、30～150℃程度、好ましくは40～120℃程度、より好ましくは50～100℃程度で好適に実施できる。

- 反応濃度は、特に制限はないが、溶媒の重量に対する酸化型補酵素Q₁₀の重量として、通常約1w/w%以上、好ましくは3w/w%以上、より好ましくは
- 15 10w/w%以上、さらに好ましくは15w/w%以上である。上限は、特に制限されないが、通常約60w/w%以下、好ましくは50w/w%以下、より好ましくは40w/w%以下、さらに好ましくは30w/w%以下である。よって、反応濃度は、約1～60w/w%、好ましくは約3～50w/w%、より好ましくは約10～40w/w%で好適に実施できる。

- 20 還元反応は、還元剤の種類や量によって異なり、一律に規定できないが、通常、48時間以内、好ましくは24時間以内、より好ましくは10時間以内、さらに好ましくは5時間以内に完了させることができる。

- なお、還元反応は、脱酸素雰囲気下で実施するのが極めて好ましく、驚くべきことには、特に次亜硫酸類を用いた還元反応では、還元反応の収率向上や還元剤
- 25 量の削減に大きく寄与することも見出した。脱酸素雰囲気は、不活性ガスによる置換、減圧、沸騰やこれらを組み合わせることにより達成できる。少なくとも、不活性ガスによる置換、即ち、不活性ガス雰囲気を用いるのが好適である。上記不活性ガスとしては、例えば、窒素ガス、ヘリウムガス、アルゴンガス、水素ガス、炭酸ガス等を挙げることができ、好ましくは窒素ガスである。

このようにして得られた還元反応液から、生成した還元型補酵素 Q_{10} を含有する有機相を採取し、必要に応じて（好ましくは）、さらに有機相を水や食塩水等を用いて繰り返し水洗して、夾雑物を完全に除去した後、アルコール類及び／又はケトン類に溶媒置換して、上述の晶析法に用いることができる。

- 5 酸化防護の観点からは、還元型補酵素 Q_{10} が、炭化水素類、脂肪酸エステル類、エーテル類、及び、ニトリル類から選ばれる少なくとも1種の溶媒に溶解された溶液を、アルコール類及び／又はケトン類に溶媒置換するのが好ましい。

特に、還元剤として、次亜硫酸ナトリウム等の上記次亜硫酸類を用いる場合には、次亜硫酸類由来の夾雑物を完全に除去したり、水相のpHを安定させるため
10 に、繰り返し水洗することが望ましい。

又、上述したように、本発明の晶析法で用いられるアルコール類及び／又はケトン類（好ましくは、水と相溶性の高いアルコール類及び／又はケトン類（具体的には、アルコール類としては、炭素数1～5、好ましくは炭素数1～4、より好ましくは炭素数1～3の1価又は2価（好ましくは1価）のアルコール、ケト
15 ン類としては、アセトン、メチルエチルケトン等））を用いて、アスコルビン酸類で還元を行った場合は、前述の晶析法に従って、還元反応液から直接還元型補酵素 Q_{10} を晶析する（直接単離法（ワンポット法））のが極めて簡便且つ効率的な晶析法である。その場合、上記方法において還元反応を行った後、好ましくは、冷却又は濃縮又は貧溶媒添加（好ましくは水添加）して、より好ましくは冷
20 却又は濃縮して、さらに好ましくは冷却して、還元型補酵素 Q_{10} を晶出するのが良い。尚、この場合、還元反応における溶媒は、特に制限されないが、上記アルコール類及び／又はケトン類を主成分とする溶媒であるのが好ましい。

通常、反応速度、反応収率の点から、溶媒中の上記アルコール類及び／又はケトン類の割合は、約50w/w%以上、好ましくは約60w/w%以上、より好
25 ましくは約70w/w%以上であるが、引き続き晶析への利用も考慮すると、さらに好ましくは約80w/w%以上、特に好ましくは約90w/w%以上、とりわけ好ましくは約93w/w%以上である。

反応時に水を併用した場合は、溶媒中の上記アルコール類及び／又はケトン類の割合は、下限は、約90w/w%以上、好ましくは約91w/w%以上、より

好ましくは約 92 w/w% 以上、さらに好ましくは約 93 w/w% 以上であり、上限は、約 99.5 w/w% 以下、好ましくは約 99 w/w% 以下、より好ましくは約 98 w/w% 以下、さらに好ましくは約 97 w/w% 以下である。約 93 ~ 97 w/w% が最も好適である。

- 5 本発明により、高品質の還元型補酵素 Q_{10} 結晶を作業性、経済性良く得ることができる。本発明により得られる還元型補酵素 Q_{10} 結晶は、還元型補酵素 Q_{10} / 酸化型補酵素 Q_{10} の重量比が、96/4 以上、好ましくは 98/2 以上、より好ましくは 99/1 以上が期待できる。

10 発明を実施するための最良の形態

以下に実施例を挙げて本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれら実施例のみに限定されるものではない。また、実施例中の還元型補酵素 Q_{10} の純度、還元型補酵素 Q_{10} と酸化型補酵素 Q_{10} との重量比は、下記 HPLC 分析により求めたが、得られた還元型補酵素 Q_{10} の純度は本発明における純度の限界値を規定するものではなく、また、同様に、還元型補酵素 Q_{10} と酸化型補酵素 Q_{10} との重量比も、その上限値を規定するものではない。

(HPLC 分析条件)

- 20 カラム ; SYMMETRY C18 (Waters 製) , 250 mm (長さ) ,
4.6 mm (内径) 、移動相 ; $C_2H_5OH : CH_3OH = 4 : 3$ (v : v) 、検
出波長 ; 210 nm 、流速 ; 1 ml/min 、還元型補酵素 Q_{10} の保持時間 ;
9.1 min 、酸化型補酵素 Q_{10} の保持時間 ; 13.3 min 。

(実施例 1)

- 25 100 g の酸化型補酵素 Q_{10} (酸化型補酵素 Q_9 を 0.40% 含有、純度 99.4%) を 25℃ で 1000 g のヘプタンに溶解させた。攪拌 (攪拌所要動力 0.3 kw/m³) しながら、還元剤として次亜硫酸ナトリウム (純度 75% 以上) 100 g に 1000 ml の水を加えて溶解させた水溶液を、徐々に添加し、25℃、pH 4~6 で還元反応を行った。2 時間後、反応液から水相を除去し、脱気

した飽和食塩水 1000 g でヘプタン相を 6 回水洗した。以上、すべての操作は窒素雰囲気下で実施した。このヘプタン相を減圧下にて溶媒置換し、50℃の還元型補酵素 Q_{10} の 7% (w/w) エタノール溶液を調製した（還元型補酵素 Q_{10} を 100 g（還元型補酵素 Q_9 を 0.40% 含有）を含む）。さらに、窒素雰囲気下にて攪拌（攪拌所要動力 0.3 kW/m³）しながら 10℃/時間の冷却速度で、2℃まで冷却し、結晶を析出させた。スラリーは良好な流動性を示し、容易に晶析容器より払い出しが可能であった。得られたスラリーを減圧ろ過し、湿結晶を冷エタノール、冷水、冷エタノールで順に洗浄（洗浄に用いた冷溶媒の温度は 2℃）して、さらに、湿結晶を減圧乾燥（20～40℃、1～30 mmHg）することにより、白色の乾燥結晶 95 g（還元型補酵素 Q_9 を 0.19% 含有、除去率 53%）を得た（有姿収率 95 モル%）。得られた結晶の還元型補酵素 Q_{10} /酸化型補酵素 Q_{10} の重量比は 99.3/0.7、還元型補酵素 Q_{10} の純度は 99.0% であった。なお、スラリーのろ過には濾紙を敷いた直径 20 cm のヌッチェを用い、アスピレーターで減圧した。ろ過の所要時間は 12 分であった。

（実施例 2）

実施例 1 とまったく同条件下にて還元反応から水洗までの一連の操作を行い、還元型補酵素 Q_{10} のヘプタン溶液を得た（還元型補酵素 Q_{10} を 100 g（還元型補酵素 Q_9 を 0.40% 含有）を含む）。このヘプタン溶液を減圧下にて溶媒置換し、50℃の還元型補酵素 Q_{10} の 7% (w/w) 2-プロパノール溶液を調製した。この溶液を窒素雰囲気下にて攪拌（攪拌所要動力 0.3 kW/m³）しながら 10℃/時間の冷却速度で、2℃まで冷却し、結晶を析出させた。スラリーは良好な流動性を示し、容易に晶析容器より払い出しが可能であった。得られたスラリーを減圧ろ過し（実施例 1 と同様、濾過性は良好）、湿結晶を冷 2-プロパノール、冷水、冷 2-プロパノールで順に洗浄（洗浄に用いた冷溶媒の温度は 2℃）して、さらに、湿結晶を減圧乾燥（20～40℃、1～30 mmHg）することにより、白色の乾燥結晶 94 g（還元型補酵素 Q_9 を 0.20% 含有、除去率 50%）を得た（有姿収率 94 モル%）。得られた結晶の還元型補酵素 Q_{10}

$_{10}$ /酸化型補酵素 Q_{10} の重量比は99.3/0.7、還元型補酵素 Q_{10} の純度は99.0%であった。

(実施例3)

- 5 100 gの酸化型補酵素 Q_{10} （酸化型補酵素 Q_9 を0.40%含有、純度99.4%）を25℃で1000 gのヘキサンに溶解させた。攪拌（攪拌所要動力0.3 kw/m³）しながら、還元剤として次亜硫酸ナトリウム（純度75%以上）100 gに1000 mlの水を加えて溶解させた水溶液を、徐々に添加し、25℃、pH4~6で還元反応を行った。2時間後、反応液から水相を除去し、脱気
- 10 した飽和食塩水1000 gでヘキサン相を6回水洗した。以上、すべての操作は窒素雰囲気下で実施した。このヘキサン相を減圧下にて溶媒置換し、50℃の還元型補酵素 Q_{10} の7%（w/w）アセトン溶液を調製した（還元型補酵素 Q_{10} を100 g（還元型補酵素 Q_9 を0.40%含有）を含む）。この溶液を窒素雰囲気下にて攪拌（攪拌所要動力0.3 kw/m³）しながら10℃/時間の冷却
- 15 速度で、2℃まで冷却し、結晶を析出させた。スラリーは良好な流動性を示し、容易に晶析容器より払い出しが可能であった。得られたスラリーを減圧ろ過し（実施例1と同様、濾過性は良好）、湿結晶を冷アセトン、冷水、冷アセトンで順に洗浄（洗浄に用いた冷溶媒の温度は2℃）して、さらに、湿結晶を減圧乾燥（20~40℃、1~30 mmHg）することにより、白色の乾燥結晶93 g（還
- 20 元型補酵素 Q_9 を0.21%含有、除去率48%）を得た（有姿収率93モル%）。得られた結晶の還元型補酵素 Q_{10} /酸化型補酵素 Q_{10} の重量比は99.2/0.8、還元型補酵素 Q_{10} の純度は98.9%であった。

(実施例4)

- 25 実施例1とまったく同条件下にて還元反応、さらには溶媒置換を行い、50℃の還元型補酵素 Q_{10} の7%（w/w）エタノール溶液を調製した（還元型補酵素 Q_{10} を100 g（還元型補酵素 Q_9 を0.40%含有）を含む）。このエタノール溶液に水50 gを添加し、攪拌（攪拌所要動力0.3 kw/m³）しながら、10℃/時間の冷却速度で2℃まで冷却して結晶を析出させた。スラリーは非常

に良好な流動性を示し、容易に晶析容器より払い出しが可能であった。なお、以上すべての操作は窒素雰囲気下で実施した。得られたスラリーを減圧ろ過し（実施例 1 と比べ、濾過性は極めて良好）、湿結晶を冷エタノール、冷水、冷エタノールで順に洗浄（洗浄に用いた冷溶媒の温度は 2℃）して、さらに、湿結晶を減
5 圧乾燥（20～40℃、1～30mmHg）することにより、白色の乾燥結晶 97g（還元型補酵素 Q₉ を 0.21% 含有、除去率 48%）を得た（有姿収率 97モル%）。得られた結晶の還元型補酵素 Q₁₀/酸化型補酵素 Q₁₀ の重量比は 99.2/0.8、還元型補酵素 Q₁₀ の純度は 98.9% であった。

10 (実施例 5)

100g の酸化型補酵素 Q₁₀（純度 99.4%）を 25℃ で 1000g の酢酸エチルに溶解させた。攪拌（攪拌所要動力 0.3kw/m³）しながら、還元剤として次亜硫酸ナトリウム（純度 75% 以上）100g に 1000ml の水を加えて溶解させた水溶液を、徐々に添加し、25℃、pH 4～6 で還元反応を行
15 った。2 時間後、反応液から水相を除去し、脱気した飽和食塩水 1000g で酢酸エチル相を 6 回水洗した。以上、すべての操作は窒素雰囲気下で実施した。この酢酸エチル相 1100g を減圧下、48℃ にて 300g に濃縮し、窒素雰囲気下で同温を維持しながらエタノール 1100g および水 50g を添加後、攪拌（攪拌所要動力 0.3kw/m³）しながら 10℃/時間の冷却速度で、2℃まで
20 冷却して結晶を析出させた。スラリーは良好な流動性を示し、容易に晶析容器より払い出しが可能であった。得られたスラリーを減圧ろ過し（実施例 1 と比べ、濾過性は極めて良好）、湿結晶を冷エタノール、冷水、冷エタノールで順に洗浄（洗浄に用いた冷溶媒の温度は 2℃）して、さらに、湿結晶を減圧乾燥（20～40℃、1～30mmHg）することにより、白色の乾燥結晶 91g を得た（有
25 姿収率 91モル%）。得られた結晶の還元型補酵素 Q₁₀/酸化型補酵素 Q₁₀ の重量比は 99.1/0.9、還元型補酵素 Q₁₀ の純度は 98.8% であった。

(実施例 6)

100g の酸化型補酵素 Q₁₀（純度 99.4%）を 25℃ で 1000g のへ

- プタンに溶解させ、2.9 N 硫酸 1100 g および亜鉛粉末 15 g を添加し、攪拌（攪拌所要動力 0.3 kW/m³）しながら、25℃で6時間の還元反応を行った。濃塩酸 1000 g を添加後、反応液から水相を除去し、脱気した飽和食塩水 1000 g でヘプタン相を6回水洗した。以上、すべての操作は窒素雰囲気下
- 5 で実施した。このヘプタン相を減圧下にて溶媒置換し、50℃の還元型補酵素 Q₁₀ の 7% (w/w) エタノール溶液を調製した。さらに、窒素雰囲気下にて攪拌（攪拌所要動力 0.3 kW/m³）しながら 10℃/時間の冷却速度で、2℃まで冷却し、結晶を析出させた。スラリーは良好な流動性を示し、容易に晶析容器より払い出しが可能であった。なお、得られたスラリーを減圧ろ過し（実施例
- 10 1と同様、濾過性は良好）、湿結晶を冷エタノール、冷水、冷エタノールで順に洗浄（洗浄に用いた冷溶媒の温度は2℃）して、さらに、湿結晶を減圧乾燥（20～40℃、1～30 mmHg）することにより、白色の乾燥結晶 95 g を得た（有姿収率 95 モル%）。得られた結晶の還元型補酵素 Q₁₀/酸化型補酵素 Q₁ の重量比は 99.3/0.7、還元型補酵素 Q₁₀ の純度は 99.0% であった。

15

（比較例 1）

- 実施例 1 とまったく同様にして、飽和食塩水にて水洗後の還元型補酵素 Q₁₀ 100 g を含むヘプタン相（還元型補酵素 Q₉ を 0.40% 含有、純度 99.4%）を得た。このヘプタン相を攪拌（攪拌所要動力 0.3 kW/m³）しながら
- 20 10℃/時間の冷却速度で、50℃から2℃まで冷却し、結晶を析出させた。得られたスラリーは流動性が悪く、晶析容器からの払い出しが実施例 1 に比べ困難であった。なお、以上すべての操作は窒素雰囲気下で実施した。得られたスラリーを減圧ろ過し、湿結晶を冷ヘプタン、冷エタノール、冷水、冷エタノール、冷ヘプタンで順に洗浄（洗浄に用いた冷溶媒の温度は2℃）して、さらに、湿結晶
- 25 を減圧乾燥（20～40℃、1～30 mmHg）することにより、白色の乾燥結晶 93 g（還元型補酵素 Q₉ を 0.29% 含有、除去率 28%）を得た（有姿収率 93 モル%）。得られた結晶の還元型補酵素 Q₁₀/酸化型補酵素 Q₁₀ の重量比は 99.6/0.4、還元型補酵素 Q₁₀ の純度は 99.2% であった。なお、スラリーのろ過には濾紙を敷いた直径 20 cm のヌツチェを用い、アスピレータ

ーで減圧した。ろ過の所要時間は37分であった。また、得られた結晶を実施例1～6の結晶と共に光学顕微鏡で観察したところ、実施例1～6と比較して明らかに小さな針状結晶であった。

5 (実施例7)

- 100gの酸化型補酵素 Q_{10} （純度99.4%）を25℃で1000gのヘキサンに溶解させた。攪拌（攪拌所要動力0.3kW/m³）しながら、還元剤として次亜硫酸ナトリウム（純度75%以上）40gに1000mlの水を加えて溶解させた水溶液を、徐々に添加し、25℃、pH4～6で還元反応を行った。
- 10 2時間後、反応液から水相を除去し、脱気した飽和食塩水1000gでヘキサン相を6回水洗した。なお、以上すべての操作は窒素雰囲気下で実施した。このヘキサン相を減圧下にて溶媒置換し、50℃の還元型補酵素 Q_{10} の7%（w/w）エタノール溶液を調製した。さらに、窒素雰囲気下にて攪拌（攪拌所要動力0.3kW/m³）しながら10℃/時間の冷却速度で、2℃まで冷却し、結晶を析
- 15 出させた。スラリーは良好な流動性を示し、容易に晶析容器より払い出しが可能であった。得られたスラリーを減圧ろ過し、湿結晶を冷エタノール、冷水、冷エタノールで順に洗浄（洗浄に用いた冷溶媒の温度は2℃）して、さらに、湿結晶を減圧乾燥（20～40℃、1～30mmHg）することにより、白色の乾燥結晶95gを得た（有姿収率95モル%）。得られた結晶の還元型補酵素 Q_{10} ／
- 20 酸化型補酵素 Q_{10} の重量比は99.2／0.8、還元型補酵素 Q_{10} の純度は98.9%であった。

(実施例8)

- 使用した酸化型補酵素 Q_{10} 中の純度が98.4%（酸化型補酵素 Q_9 を1.0
- 25 0%、酸化型補酵素 Q_8 を0.30%、及び、酸化型補酵素 Q_7 を0.04%含有）であること以外は、実施例1とまったく同様にして、50℃の還元型補酵素 Q_{10} の7%（w/w）エタノール溶液を調製した（還元型補酵素 Q_9 を1.00%、還元型補酵素 Q_8 を0.30%、及び、還元型補酵素 Q_7 を0.04%含有）。このエタノール溶液に水50gを添加し、攪拌（攪拌所要動力0.3kW／

- m³)しながら、3℃/時間の冷却速度で2℃まで冷却して結晶を析出させた。スラリーは非常に良好な流動性を示し、容易に晶析容器より払い出しが可能であった。なお、以上すべての操作は窒素雰囲気下で実施した。得られたスラリーを減圧ろ過し（実施例1と比べ、濾過性は極めて良好）、湿結晶を冷エタノール、冷水、冷エタノールで順に洗浄（洗浄に用いた冷溶媒の温度は2℃）して、さらに、湿結晶を減圧乾燥（20～40℃、1～30mmHg）することにより、白色の乾燥結晶95g（還元型補酵素Q₉を0.52%含有、除去率48%、還元型補酵素Q₈及び還元型補酵素Q₇は検出されず）を得た（収率97モル%）。得られた結晶の還元型補酵素Q₁₀/酸化型補酵素Q₁₀の重量比は99.3/0.7、還元型補酵素Q₁₀の純度は98.7%であった。

（実施例9）

- 1000gのエタノール中に、100gの酸化型補酵素Q₁₀（純度99.4%）、60gのL-アスコルビン酸を加え、78℃にて攪拌し、還元反応を行った。30時間後、50℃まで冷却し、同温を保持しながらエタノールを400g添加した。このエタノール溶液を攪拌（攪拌所要動力0.3kW/m³）しながら、10℃/時間の冷却速度で2℃まで冷却し、白色のスラリーを得た。スラリーは良好な流動性を示し、容易に晶析容器より払い出しが可能であった。得られたスラリーを減圧ろ過し（実施例1と同様、濾過性は良好）、湿結晶を冷エタノール、冷水、冷エタノールで順に洗浄（洗浄に用いた冷溶媒の温度は2℃）して、さらに、湿結晶を減圧乾燥（20～40℃、1～30mmHg）することにより、白色の乾燥結晶95gを得た（有姿収率95モル%）。なお、以上すべての操作は窒素雰囲気下で実施した。得られた結晶の還元型補酵素Q₁₀/酸化型補酵素Q₁₀の重量比は99.5/0.5、還元型補酵素Q₁₀の純度は99.2%であった。

（実施例10）

- 1000gのエタノール中に、100gの酸化型補酵素Q₁₀（純度99.4%）、60gのL-アスコルビン酸を加え、78℃にて攪拌し、還元反応を行っ

た。30時間後、50℃まで冷却し、同温を保持しながらエタノール330gと水70g添加した。このエタノール溶液を攪拌（攪拌所要動力0.3kW/m³）しながら、10℃/時間の冷却速度で2℃まで冷却し、白色のスラリーを得た。スラリーは非常に良好な流動性を示し、容易に晶析容器より払い出しが可能であった。

5 得られたスラリーを減圧ろ過し（実施例1と比べ、濾過性は極めて良好）、湿結晶を冷エタノール、冷水、冷エタノールで順に洗浄（洗浄に用いた冷溶媒の温度は2℃）して、さらに、湿結晶を減圧乾燥（20～40℃、1～30mmHg）することにより、白色の乾燥結晶97gを得た（有姿収率97モル%）。なお、以上すべての操作は窒素雰囲気下で実施した。得られた結晶の還元型補酵素

10 Q₁₀/酸化型補酵素Q₁₀の重量比は99.5/0.5、還元型補酵素Q₁₀の純度は99.2%であった。

（実施例11）

1000gのアセトン中に、100gの酸化型補酵素Q₁₀（純度99.4%）

15 、60gのL-アスコルビン酸、30gの炭酸水素ナトリウムを加え、50℃にて攪拌し、還元反応を行った。45時間後、同温を保持しながらアセトンを400g添加した。このアセトン溶液を攪拌（攪拌所要動力0.3kW/m³）しながら、10℃/時間の冷却速度で2℃まで冷却し、白色のスラリーを得た。スラリーは良好な流動性を示し、容易に晶析容器より払い出しが可能であった。得

20 られたスラリーを減圧ろ過し（実施例1と同様、濾過性は良好）、湿結晶を冷アセトン、冷水、冷アセトンで順に洗浄（洗浄に用いた冷溶媒の温度は2℃）して、さらに、湿結晶を減圧乾燥（20～40℃、1～30mmHg）することにより、白色の乾燥結晶93gを得た（有姿収率93モル%）。なお、以上すべての操作

25 は窒素雰囲気下で実施した。得られた結晶の還元型補酵素Q₁₀/酸化型補酵素Q₁₀の重量比は99.5/0.5、還元型補酵素Q₁₀の純度は99.2%であった。

（参考例1）

表1に示す各種溶媒20gに1gの還元型補酵素Q₁₀（還元型補酵素Q₁₀/

酸化型補酵素 Q_{10} の重量比は99.6/0.4)を、25℃下で溶解した。大気中、25℃で24時間の攪拌後、液中の還元型補酵素 Q_{10} /酸化型補酵素 Q_{10} の重量比を測定した結果を表1に示す。

表1

溶媒	R
ヘプタン	99.1/0.9
ヘキサン	98.7/1.3
トルエン	98.8/1.2
クロロホルム	98.9/1.1
酢酸エチル	98.9/1.1
メチルtert-ブチルエーテル	98.6/1.4
テトラヒドロフラン	98.5/1.5

R：還元型補酵素 Q_{10} /酸化型補酵素 Q_{10} の重量比

(参考例2)

表2に示す各種溶媒100gに1gの還元型補酵素 Q_{10} （還元型補酵素 Q_{10} /酸化型補酵素 Q_{10} の重量比は99.6/0.4)を、35℃下で溶解した。大気中、35℃で24時間の攪拌後、液中の還元型補酵素 Q_{10} /酸化型補酵素 Q_{10} の重量比を測定した結果を表2に示す。

表2

溶媒	R
ヘプタン	96.7/3.3
酢酸エチル	96.4/3.6
アセトニトリル	96.0/4.0

R：還元型補酵素 Q_{10} /酸化型補酵素 Q_{10} の重量比

産業上の利用可能性

本発明は、上述の構成よりなるので、工業的規模での作業性、経済性に優れた方法で、高品質の還元型補酵素 Q_{10} 結晶を簡便且つ効率的に得ることができる。

請求の範囲

1. 還元型補酵素 Q_{10} をアルコール類及び／又はケトン類の溶液中で晶析することを特徴とする還元型補酵素 Q_{10} 結晶の製造法。

5

2. 還元型補酵素 Q_{10} をアルコール類の溶液中で晶析する請求の範囲第1項記載の製造法。

3. アルコール類が炭素数1～20の1価アルコールである請求の範囲第1項
10 又は2項記載の製造法。

4. アルコール類が炭素数1～5の1価アルコールである請求の範囲第1項又は2項記載の製造法。

15 5. 炭素数1～5の1価アルコールがエタノールである請求の範囲第4項記載の製造法。

6. 還元型補酵素 Q_{10} をケトン類の溶液中で晶析する請求の範囲第1項記載の製造法。

20

7. ケトン類が炭素数3～6のケトンである請求の範囲第1項又は6項記載の製造法。

8. 炭素数3～6のケトンがアセトンである請求の範囲第7項記載の製造法。

25

9. 溶媒中のアルコール類及び／又はケトン類の割合が80 w/w%以上である請求の範囲第1～8項のいずれかに記載の製造法。

10. 補助的溶媒として水を併用する請求の範囲第1～9項のいずれかに記載

の製造法。

1 1. 溶媒中のアルコール類及び／又はケトン類の割合が 90～99.5 w/w %である請求の範囲第 10 項記載の製造法。

5

1 2. 晶析は、冷却晶析、又は、冷却晶析に他の晶析方法を組み合わせて行う請求の範囲第 1～11 項のいずれかに記載の製造法。

1 3. 晶析時の冷却温度は、25℃以下である請求の範囲第 12 項記載の製造
10 法。

1 4. 冷却速度は、40℃/時間以下である請求の範囲第 12 項又は 13 項記載の製造法。

15 1 5. 晶析濃度は、晶析終了時の晶析溶媒の重量に対する還元型補酵素 Q₁₀の重量として 15 w/w %以下である請求の範囲第 1～14 項のいずれかに記載の製造法。

1 6. 晶析は、単位容積当たりの攪拌所要動力として 0.01 kW/m³以上の強制流動下を実施する請求の範囲第 1～15 項のいずれかに記載の製造法。
20

1 7. 晶析に際して種晶を添加する請求の範囲第 1～16 項のいずれかに記載の製造法。

25 1 8. 脱酸素雰囲気下で実施する請求の範囲第 1～17 項のいずれかに記載の製造法。

1 9. 不純物を母液に除去する請求の範囲第 1～18 項のいずれかに記載の製造法。

20. 除去される不純物が、還元型補酵素 Q_9 、還元型補酵素 Q_8 、及び、還元型補酵素 Q_7 から選ばれる少なくとも1種である請求の範囲第19項記載の製造法。

5

21. 還元型補酵素 Q_{10} のアルコール類及び／又はケトン類の溶液は、還元型補酵素 Q_{10} が炭化水素類、脂肪酸エステル類、エーテル類、及び、ニトリル類から選ばれる少なくとも1種の溶媒に溶解された溶液を、アルコール類及び／又はケトン類に溶媒置換して得られたものである請求の範囲第1項記載の製造法。

10

22. 還元型補酵素 Q_{10} が炭化水素類、脂肪酸エステル類、エーテル類、及び、ニトリル類から選ばれる少なくとも1種の溶媒に溶解された溶液は、酸化型補酵素 Q_{10} を、還元剤として水素化金属化合物、鉄、亜鉛、次亜硫酸類、又は、アスコルビン酸類を用い、炭化水素類、脂肪酸エステル類、エーテル類、及び、
15 ニトリル類から選ばれる少なくとも1種を溶媒として用いて還元した後、生成した還元型補酵素 Q_{10} を含有する有機相を採取し、必要に応じ、該有機相をさらに水洗したものである請求の範囲第21項記載の製造法。

23. 還元剤として、次亜硫酸類を用いる請求の範囲第22項記載の製造法。

20

24. 次亜硫酸類を用いる還元は、水共存下、pH3～7で行われる請求の範囲第23項記載の製造法。

25. 還元剤として、アスコルビン酸類を用いる請求の範囲第22項記載の製造法。

25

26. 還元は、脱酸素雰囲気下に行われる請求の範囲第22～25項のいずれかに記載の製造法。

27. 酸化型補酵素 Q_{10} をアルコール類及び／又はケトン類の溶液中で還元型補酵素 Q_{10} に還元することにより得られた、還元型補酵素 Q_{10} を含有するアルコール類及び／又はケトン類の溶液から、還元型補酵素 Q_{10} を晶析する請求の範囲第1～20項のいずれかに記載の製造法。

5

28. 酸化型補酵素 Q_{10} をアルコール類の溶液中で還元型補酵素 Q_{10} に還元することにより得られた、還元型補酵素 Q_{10} を含有するアルコール類の溶液から、還元型補酵素 Q_{10} を晶析する請求の範囲第27項記載の製造法。

10 29. アルコール類が炭素数1～20の1価アルコールである請求の範囲第27項又は28項記載の製造法。

30. アルコール類が炭素数1～5の1価アルコールである請求の範囲第27項又は28項記載の製造法。

15

31. 炭素数1～5の1価アルコールがエタノールである請求の範囲第30項記載の製造法。

20 32. 酸化型補酵素 Q_{10} をケトン類の溶液中で還元型補酵素 Q_{10} に還元することにより得られた、還元型補酵素 Q_{10} を含有するケトン類の溶液から、還元型補酵素 Q_{10} を晶析する請求の範囲第27項記載の製造法。

33. ケトン類が炭素数3～6のケトンである請求の範囲第27項又は32項記載の製造法。

25

34. 炭素数3～6のケトンがアセトンである請求の範囲第33項記載の製造法。

35. 還元剤としてアルコルビン酸類を用いる請求の範囲第27～34項のい

ずれかに記載の製造法。

36. 塩基性物質又は亜硫酸水素塩の共存下に還元を行う請求の範囲第35項記載の製造法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/07144

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ C07C43/23, 41/40, 41/26

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ C07C43/23, 41/40, 41/26

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN), REGISTRY (STN), CASREACT (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	JP 54-119424 A (Ajinomoto Co., Inc.), 17 September, 1979 (17.09.79), Examples (Family: none)	1, 6-20 21-24, 26-31 2-5, 25, 32-36
X Y A	JP 53-133687 A (Nisshin Flour Milling Co., Ltd.), 21 November, 1978 (21.11.78), Page 2, upper right column to page 3, upper right column (Family: none)	1-20 21-24, 26-31 25, 32-36
X Y A	GB 947643 A (Merck & Co., Inc.), 22 January, 1964 (22.01.64), Example II & CA 703856 A	1-5, 9-20, 27-31 21-24, 26-31 6-8, 25, 32-36

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
21 October, 2002 (21.10.02)

Date of mailing of the international search report
05 November, 2002 (05.11.02)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/07144

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 52-72884 A (Nisshin Flour Milling Co., Ltd.), 17 June, 1977 (17.06.77), Examples (Family: none)	21-24, 26
Y	JP 57-70834 A (Takara Shuzo Kabushiki Kaisha), 01 May, 1982 (01.05.82), Examples (Family: none)	21-24, 26
A	WO 96/17626 A2 (Ryan Pharmaceuticals, Inc.), 13 June, 1996 (13.06.96), & EP 796108 A1 & JP 10-509732 A	1-36
A	WO 98/7417 A1 (Kaneka Corp.), 26 February, 1998 (26.02.98), & US 6184255 B1 & EP 956854 A1 & JP 10-109933 A	1-36

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07C43/23, 41/40, 41/26

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07C43/23, 41/40, 41/26

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), REGISTRY (STN), CASREACT (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y A	JP 54-119424 A(味の素株式会社), 1979. 09. 17, 実施例 (ファミリーなし)	1, 6-20 21-24, 26-31 2-5, 25, 32-36
X Y A	JP 53-133687 A(日清製粉株式会社), 1978. 11. 21, 第2頁右上欄~第 3頁右上欄 (ファミリーなし)	1-20 21-24, 26-31 25, 32-36

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

21. 10. 02

国際調査報告の発送日

05.11.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

松本 直子



4H

9546

電話番号 03-3581-1101 内線 3443

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	GB 947643 A(MERCK & CO. , INC.), 1964. 01. 22, EXAMPLE II & CA 703856 A	1-5, 9-20, 27-31
Y		21-24, 26-31
A		6-8, 25, 32-36
Y	JP 52-72884 A(日清製粉株式会社), 1977. 06. 17, 実施例 (ファミリーなし)	21-24, 26
Y	JP 57-70834 A(寶酒造株式会社), 1982. 05. 01, 実施例 (ファミリーなし)	21-24, 26
A	WO 96/17626 A2(RYAN PHARMACEUTICALS, INC), 1996. 06. 13 & EP 796108 A1 & JP 10-509732 A	1-36
A	WO 98/7417 A1(鐘淵化学工業株式会社), 1998. 02. 26, & US 6184255 B1 & EP 956854 A1 & JP 10-109933 A	1-36